THESIS MUNICH 1963

Über die Brauchbarkeit des Glukose-Testes im Zervikalsekret der Hündin zur Bestimmung der Ovulation

Margot Selbmann

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen
Tierklinik der Universität München
Vorstand: Professor Dr. W. Baier

Über die Brauchbarkeit des Glukose-Testes im Zervikalsekret der Hündin zur Bestimmung der Ovulation

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Margot Selbmann
aus Vaterstetten

1963

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Ullrich
Referent: Professor Dr. W. Baier

Tag der Promotion: 22. Februar 1963

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
A. Allgemeines über den Zyklus der Hündin	2
B. Zytologie der Vaginalschleimhaut	3
C. Biophysikalische und biochemische Veränderungen des Zervikalsekretes	7
D. Der Glukose-Test in der Humanmedizin	12
III. Eigene Untersuchungen	14
A. Methodik	14
B. Untersuchungsergebnisse	17
C. Zytogramme	19
IV. Besprechung der Ergebnisse	29
V. Zusammenfassung	31
VI. Literaturverzeichnis	32
Lebenslauf	36

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0122

I. EINLEITUNG

In der Veterinärmedizin ist man bestrebt, klinische Bestimmungsmethoden zu entwickeln, die eine Diagnostik der verschiedenen Stadien des generativen Funktionskreises ermöglichen. Bei der Hündin interessiert in diesem Zusammenhang die Determination der deckbereiten Tage während des Brunstzyklus.

Aus der Humanmedizin ist bekannt, daß das Zervikalsekret der Frau zum Zeitpunkt der Ovulation glukosehaltig ist. Entsprechende Untersuchungen erlauben jedoch nicht eindeutig die Folgerung, daß dieses Auftreten von Glukose als Ovulationsbestimmungsmethode Verwendung finden kann.

Neben der Ansprache entsprechender klinischer Symptome an den Geschlechtsorganen läufiger Hündinnen wird die Ovulation letztlich durch das Verhalten der Hündinnen einem Rüden gegenüber bestimmt. In dieser Arbeit soll geprüft werden, ob ein Bestimmungsverfahren mit Hilfe des Glukose-Testes im Zervikalschleim bei der Hündin möglich ist.

II. LITERATUR

A. Allgemeines über den Zyklus der Hündin

Die Beobachtung der biophysikalischen und biochemischen Veränderungen innerhalb des Zervikalkanales der Hündin zeigt, daß das Zervikalsekret in Abhängigkeit vom funktionellen Geschehen Schwankungen in Menge, Konsistenz und Zusammensetzung unterliegt.

Die "Läufigkeit" oder "Hitze" der Hündinnen tritt durchschnittlich 2mal im Jahr auf, vorzugsweise im Frühjahr und Herbst. Die Dauer der Brunst unterliegt individuellen Schwankungen, selten wird eine Zeit von 3 Wochen überschritten. Nach Benesch (6) beginnt die Brunst mit einem Anschwellen der Vulva und dem Auftreten eines blutigen, lackfarbenen Ausflusses, der frei von Blutgerinnseln ist. Dieser Fluor verliert allmählich an Farbe. In der 2. Woche der Läufigkeit wird nur noch eine mäßige Menge schwach geröteten, dünnflüssigen Sekretes ausgeschieden. Als Wesentliches an der Brunst bezeichnet Benesch das Auftreten des Geschlechtstriebes, der Libido. Diese setzt erfahrungsgemäß erst nach Beendigung der Blutungen ein. Aus diesem Grunde wird gewöhnlich der 9. bis 13. Tag nach Brunstbeginn als Decktermin gewählt, da in dieser Zeit die Befruchtung am sichersten erfolgt. Die Veränderungen im Scheidengewölbe während der Brunst bestehen in einer Hyperplasie der Vaginalschleimhaut, die zahlreiche, durch Querfurchen unterteilte Längswülste bildet, so daß die Schleimhaut gefeldert erscheint.

Die äußeren Geschlechtsorgane vieler Hündinnen schwellen schon vor dem Sichtbarwerden der Blutungen an. Diese Schwellung und die Gewebsverhärtung der Vulva werden stärker und erreichen ihren Höhepunkt zur Zeit der ersten Annahme des Rüden, also dem Beginn des Oestrus. Der Zustand der Vergrößerung hält während des Oestrus und frühen Metoestrus an. Mit Beginn des Oestrus ist jedoch eine zunehmende Erweichung der Vulva festzustellen (Evans und Cole (15)). Die Autoren beobachteten, daß in den Fällen, in denen die weiblichen Tiere isoliert von den Rüden gehalten wurden, die Schwellung der Vulva während des Oestrus nie die Dimensionen erreichte wie nach erfolgter Paarung. Ebenso stellten sie fest, daß die Blutungen nicht immer mit der ersten Annahme des Rüden aufhörten. Sie hielten jedoch gewöhnlich nur bis zum 2. oder 3. Tage des Oestrus an.

Schon 7 bis 8 Tage vor Beginn der äußeren Blutungen erscheinen im Ausstrichbild des Vaginalsekretes rote Blutkörperchen (Griffiths und Amoroso (19)). Die Autoren stellten ebenso wie Evans und Cole fest, daß die Blutungen

nicht immer mit der ersten Annahme des Rüden aufhören. Sie beobachteten, daß bei manchen Hündinnen der blutige Fluor über den Metoestrus hinaus anhielt oder sogar noch nach erfolgter Begattung in Erscheinung trat. Den Follikelsprung vermuten sie zwischen dem 1. und 3. Tag des Oestrus, sie nehmen an, daß nicht nur eine Ovulation, sondern mehrere zur gleichen Zeit erfolgen.

Die Ovulation fällt in das Stadium der wässrig schleimigen Sekretion, die am 9. bis 12. Tage der sichtbaren Brunst erreicht wird. Die Hündinnen sind in dieser Zeit deckbereit (Küst und Schaetz (22)).

Auch Baier und Rüsse (2) sprechen von einem "Höchstgrad der physiologischen Quellung" während dieser Zeit, der bei vaginoskopischer Betrachtung den Eindruck einer Schleimhautfelderung der Vagina entstehen läßt. Hervorstechend ist auch die schon während des Prooestrus vorhandene Quellung der Zervix, deren, von deutlichen, radiär verlaufenden Wülsten umgebener Muttermund leicht geöffnet ist. Etwa 9 Wochen nach Brunstbeginn ist die Schleimhautquellung mit dem bloßen Auge nicht mehr erkennbar.

B. Zytologie der Vaginalschleimhaut

Durch die Differenzierung der während des Zyklus im Vaginalsekret auftretenden Zelltypen ist die Bestimmung des Ovulationszeitpunktes bei der Hündin möglich. Die zytologische Bestimmungsmethode lieferte bei vorliegenden Untersuchungen die zeitlichen Anhaltspunkte für die Überprüfung der Leistungsfähigkeit des Glukose-Testes im Hinblick auf das Ansprechen des Ovulationstermines. Im Jahre 1933 stellte Papanicolaou (27) erstmals bei der Frau fest, daß das Zellbild der Vaginalschleimhaut zyklischen Veränderungen unterliegt, die in Korrelation zu den Vorgängen an den Ovarien stehen. Die analogen Befunde wurden dann auch beim Tier erhoben.

Um einen Überblick über die Versuche der Zyklusdiagnose aus dem Vaginalepithel der Hündin geben zu können, ist eine Kenntnis der Begriffe der Heape'schen Stadieneinteilung notwendig. Die diesbezüglichen Arbeiten der meisten Autoren stützen sich noch auf die Heape'sche Einteilung, die sich aus den Vorgängen an den äußeren Genitalien zur Zeit der Brunst und dem psychischen Verhalten der Tiere ergibt. Die Autoren versuchen, in die Zyklusstadien der Heape'schen Einteilung den mikroskopischen Zellbefund ihrer Untersuchungen einzuordnen.

Als Anoestrus bezeichnet man die Periode vom Abschluß der regressiven Vorgänge, die einem Oestrus folgen, bis zum Beginn des nächsten Prooestrus. Die Dauer des Anoestrus ist bei Hündinnen, die im vorangegangenen Zyklus nicht trächtig waren, länger als bei trächtig gewesenen. Der Anoestrus dauert aber nie länger als 2 Monate.

Prooestrus ist die Zeit vom ersten Erscheinen der sichtbaren Blutungen aus der Vagina bis zur ersten Acceptation des Rüden.

Oestrus ist die Zeit der Kopulationsbereitschaft. Metoestrus ist die Periode, die dem Oestrus unmittelbar folgt. Sie wird zunächst durch eine Reihe progressiver Vorgänge gekennzeichnet und geht dann in den Anoestrus mit seinen regressiven Erscheinungen über. Der gesamte Ablauf des Metoestrus dauert nahezu 3 Monate (zit. nach Evans und Cole (15)).

Demmel und Witzigmann (12), Witzigmann (39) und Griffiths und Amoroso (19) halten an dieser herkömmlichen Stadieneinteilung fest. So stellen Evans und Cole (14, 15) während des Zyklus beim Hund folgende Veränderungen der freien zelligen Bestandteile im Vaginallumen fest:

Während des Prooestrus erscheinen neben roten Blutkörperchen eine große Anzahl flacher verhornter Epithelzellen. Sie gesellen sich zu den kleinen, nicht verhornten Epithelzellen und den Leukozyten des Anoestrus. Am 2. oder 3. Tage des Prooestrus dominieren diese neu hinzugekommenen Zellarten. Während der 3 bis 4 letzten Tage dieser Periode sind sie die einzigen, im Vaginalsekret vorhandenen Zelltypen. Sie allein zeigen sich auch während des Oestrus, bis in den letzten 1 bis 2 Tagen dieses Abschnittes wieder die kleinen Epithelzellen und die Leukozyten auftreten. Diese Zellen bestimmen dann das Bild des Metoestrus, die verhornten Oberflächenzellen und die Erythrozyten verschwinden.

Witzigmann (39) schreibt in einer Arbeit über die freien zelligen Bestandteile des Sekretes, daß die psychischen Brunstmerkmale der Hündin nicht immer parallel mit den mikroskopisch sichtbaren Veränderungen auftreten. Die Leukozyten verschwinden nach seiner Erfahrung oft schon vor dem ersten Tag der Kopulationsbereitschaft und treten teilweise vor dem letzten Tag des Oestrus auf. Erythrozyten werden oft noch im Metoestrus festgestellt. Beim Hund ist es nicht wie bei der Maus möglich, das Auftreten von Zellschollen auf eine bestimmte Phase des Zyklus zu beschränken.

Während Evans und Cole den Beginn des Prooestrus aus dem Auftreten der ersten Blutungen aus der Vagina bestimmen, gilt in den Untersuchungen von Griffiths und Amoroso (19) das erste Auftreten von roten Blutkörperchen im Vaginalausstrich als Zeichen für den Beginn dieser Periode, deren Beendigung

durch die erste Acceptation des Rüden angegeben wird. Während des Anoestrus treten im Vaginalschleim hauptsächlich Epithelzellen mit runden Kernen und polymorphkernige Leukozyten auf. Zur Zeit der äußeren Blutungen erfährt das Zellbild insofern eine Wandlung, als diese beiden Zellarten teilweise oder ganz zurückgehen, und die kornifizierten Epithelzellen mit den Erythrozyten das Zellbild beherrschen. Das Zellbild des späten Prooestrus ist mit dem des Oestrus identisch. Die Untersuchungsergebnisse der Autoren differieren von denen von Evans und Cole nur in der Festlegung der Länge des Prooestrus.

Im Jahre 1933 bringt Papanicolaou (27) bei der Frau erstmalig die Abhängigkeit der Vorgänge am Vaginalepithel von der Funktion der Ovarien dadurch zum Ausdruck, daß er zur Zykluseinteilung die Begriffe der ovariellen Follikelphase und der Corpus luteum-Phase verwendet.

In der Veterinärmedizin wurden die Begriffe Follikel- und Corpus luteum-Phase von Newberry und Gier (25) in Verbindung mit den Veränderungen am Vaginalepithel der Hündin eingeführt. Durch diese Einteilung wird eine phasengerechte Einordnung der Zelltypen gewährleistet.

Rieck und Kratzheller (30) verwendeten für ihre Untersuchungen nur die nach Ciba Vorschrift modifizierte Originalmethode von Papanicolaou. Diese Färbung ist geeignet, die funktionelle Verhornung des Zytoplasmas wiederzugeben. Die für bestimmte Zyklusphasen charakteristischen Keratinisierungsprozesse des Oberflächenepithels werden dabei durch eine "Azidophilie", d.h. eine leuchtende Rotfärbung sichtbar gemacht. Alle nicht verhornten oder im Verhornen begriffenen Zellen werden auf Grund ihrer "Basophilie" blau gefärbt. Kratzheller (21) bringt eine Differenzierung der während des gesamten Zyklus der Hündin auftretenden Zelltypen und ihre Einordnung in die Follikel- und Corpus luteum-Phase. Vergleichsweise benutzt er die "klinischen" Begriffe Prooestrus, Oestrus, Metoestrus und Anoestrus.

Folgende basophile Zelltypen treten während des Anoestrus im Vaginalausstrich auf:

1. Basal- und Parabasalzellen. Es sind kleine runde oder ovoide, glattrandige Zellen mit stets homogenem Zytoplasma und runden Kernen.
2. Zellen des Stratum spinosum profundum. Meist polyedrische Zellen mit homogenem Plasma und großen Kernen.
3. "Intermediärzellen". Übergangsformen von den Parabasalzellen zu den großen flachen Oberflächenzellen. Sie haben ein meist vakuolisiertes Zytoplasma.

4. Oberflächenzellen des Stratum superficiale. Sie sind groß, abgeflacht, mit aufgeworfenen Rändern. Sie haben ein fein granuliertes Plasma.

In der anlaufenden Follikelphase (Prooestrus, Oestrus) wird im Abstrich die Proliferation des Stratum superficiale sichtbar. Die allmähliche Umwandlung zu einem Stratum corneum wird dadurch gekennzeichnet, daß die 3 erstgenannten Zellgruppen immer mehr zurücktreten, und der 4. Zelltyp das Abstrichbild bis zu 60 % bestimmt. Nun zeigen sich auch erstmals die Zellen der folgenden Gruppe, die wohl noch basophil sind, einen großen Kern besitzen, aber schon durch das im Verhornen begriffene Zytoplasma charakterisiert sind. Die das Zellbild der fortgeschrittenen Follikelphase allein bestimmende Zellgruppe unterscheidet sich von der vorhergehenden nur durch ihre andersartige Chromaffinität. Diese Zellen sind azidophil und somit leuchtend rot gefärbt. Ihre Kerne sind violett und pyknotisch.

Die Umwandlung des Zellbildes der Luteinphase (Metoestrus) geschieht genau umgekehrt. Zuerst erscheinen Zusammenballungen der azidophilen Zellen, die dann durch die Zellgruppen 4 bis 1 wieder abgelöst werden. Nach 10 bis 12 Tagen ist das ursprüngliche Zellbild wieder erreicht. Das Wiederauftreten der Leukozyten fällt in die frühe Luteinphase. Der Höhepunkt der Azidophilie fällt mit dem Höhepunkt der Graaf schen Follikel, dem Beginn der Ovulationsphase zusammen. Die nachlassende oestrogene Aktivität der nach und nach springenden Follikel äußert sich in der beginnenden Desquamation. Während also das Erkennen der jeweiligen hormonalen Situation aus dem Bild des Vaginalabstriches bei der Hündin möglich ist, wird beim Rind eine derartige Zyklusdiagnose von Ganderath (17) verneint.

Frei und Metzger (zit. nach Zaki (16)) hingegen konnten auch beim Rind den jeweiligen Zyklusstand aus den Bildern des Vaginalepithels ersehen.

Von den zahlreichen Arbeiten der Humanmedizin auf diesem Gebiet seien die Ausführungen von Rauscher (28, 29) erwähnt. Der Spannungsverlust und die Zusammenballung der azidophilen Oberflächenzellen mit pyknotischen Kernen sind die ersten Zeichen, die auf ein Nachlassen der Follikelhormonwirkung hindeuten.

Der Tag, der dem Auftreten dieser Regressionserscheinungen vorausgeht, fällt nach Meinung des Autors mit dem Tag der Ovulation zusammen, dem Höhepunkt der oestrogenen Stimulation. Dieser Höhepunkt deckt sich auch mit dem "Funktionsgipfel an der Zervix", d.h. dem Zeitpunkt der stärksten Sekretion, der größten Muttermundweite und der maximalen Durchsichtigkeit des Zervikalsekretes.

C. Biophysikalische und biochemische Veränderungen des Zervikalsekretes

Bei den Wiederkäuern sind nur die Zellen des einschichtigen Zylinderepithels in der Zervix für die Produktion des Zervikalsekretes verantwortlich. Bei Mensch und Fleischfresser besitzt die Zervix eigene Drüsen (Grau und Walter (18)).

Untersuchungen über die biophysikalische und biochemische Beschaffenheit des Zervikalsekretes bei den verschiedenen Tierarten sind sehr gering. Dieser Arbeit sind daher Untersuchungsergebnisse, die am Menschen erhoben wurden und von denen eine Parallelität beim Tier angenommen werden kann, zu Grunde gelegt.

Die zyklischen Schwankungen, denen die biophysikalischen und biochemischen Eigenschaften des Zervikalsekretes unterliegen, sind auf die vermehrte Oestrogenproduktion vor dem Follikelsprung zurückzuführen (Antoine (1)). Die dabei auftretenden geringen Veränderungen an der Zervix des Menschen bestehen hauptsächlich in einer Erweiterung des Zervikalkanales. Von den biophysikalischen Schwankungen ist die Zunahme des Sekretvolumens besonders hervorzuheben. Die Menge des Zervikalsekretes kann während der Ovulation bis zur 10fachen Menge des Anoestrus anwachsen. Das vor und nach dem Follikelsprung trübe Sekret wird zum Zeitpunkt der Ovulation klar und durchsichtig. Die Viskosität des Sekretes erreicht zu diesem Zeitpunkt ihren niedrigsten Grad, der Wassergehalt ist am höchsten.

Über die Bedeutung dieser Veränderungen zum Zeitpunkt des Follikelsprunges herrscht bis heute noch keine absolute Klarheit. Man hat versucht, einen Zusammenhang zwischen den zyklischen Schwankungen und der Wanderung der Spermien zu erkennen. Die Spermien verlieren während der Proliferationsphase, in der die Viskosität am höchsten ist, im Zervikalsekret rasch ihre Bewegungsfähigkeit (Niendorf (26)). Am 13., 14. Tage des Zyklus, zum Zeitpunkt der Ovulation, können beim Menschen die Spermien das Sekret auf Grund seiner niedrigen Viskosität leicht durchdringen. Untersuchungen ergaben, daß die Lebensfähigkeit der Spermien in dem so veränderten Milieu sogar größer ist als im Samenplasma. Die Phase des Viskositätsminimums ist in ihrer Dauer von der Corpus luteum-Tätigkeit abhängig. Diese setzt nur kurze Zeit nach dem Follikelsprung ein. Allein in diesem kurzwährenden Interregnum zwischen Ovulation und Corpus luteum-Tätigkeit scheinen die Spermien aszendieren zu können. Mit Einsetzen der Gelbkörpertätigkeit nimmt die Viskosität wieder zu.

Auch Belonoschkin (4, 5) führt das spermafreundliche Verhalten des Zer-

vikalsekretes neben seiner Alkalität auf die biophysikalischen und biochemischen Veränderungen während der Ovulationsphase zurück. Der Autor gibt als Zeit der Zervixpassage beim Hund durchschnittlich 25 Sekunden an. Beim Menschen bleiben die Spermien in dem Sekret der Ovulationsphase maximal 48 Stunden lebensfähig, während sie in der Vagina schon nach 40 bis 50 Minuten absterben. Außer den bisher beschriebenen Schwankungen des Zervikalsekretes können noch andere Faktoren in Korrelation mit der Penetrationsfähigkeit der Spermien gebracht werden. So ist das Sekret während der Follikel- und Corpus luteum-Phase stark mit Leukozyten angereichert. Während der Zyklusmitte, zur Zeit der Ovulation, ist die Zahl der Leukozyten sehr gering oder sie verschwinden ganz (Lamar, Shettles und Delfs (23)).

Beim Menschen unterliegt die chemische Zusammensetzung des Zervikalsekretes vor allem in dem Gehalt an reduzierenden Substanzen zyklischen Schwankungen. Die Untersuchungen der verschiedenen Autoren der Humanmedizin unterscheiden sich in ihren Ergebnissen grundlegend voneinander. Während einige ein Absinken des Gehaltes an reduzierenden Substanzen zur Zeit der Ovulation feststellten, sprechen andere von einem Ansteigen derselben. Wieder andere bemerkten keine phasenbedingten Konzentrationsänderungen.

Shettles und Dische (33) haben die Menge der im Zervikalsekret vorhandenen Zucker um die Mitte des Zyklus bestimmt. Das Zervikalsekret ist zu diesem Zeitpunkt zellarm und durchscheinend klar. Sie benutzten zu der Bestimmung die Indolmethode nach Dische und Popper. Danach bewegte sich der Gehalt an wahren Zuckern zwischen 0,12 und 0,25 %. Eine Differenzierung ergab, daß Methylpentose bis zu 20 % dieser Menge ausmacht, während der Gehalt an Galaktose bis zu 55 % beträgt. Der Rest, also 25 % ist Glukose.

75 bis 80 % der Polysaccharide des Zervikalsekretes beim Menschen in der Mitte des Zyklus werden von neutralen Mukopolysacchariden gestellt. Diese enthalten Methylpentose, Galaktose und Hexosamine. Hexoketosen, Mannose und Hexuronsäure wurden nur in geringer Menge gefunden (Shettles (32)). Shettles, Dische und Osnos (34) entnahmen Schleim aus dem Zervikalkanal der Frau und lösten ihn in der 9fachen Menge Natronlauge auf. Die Differenzierung der nachweisbaren Zucker bestätigte die Anwesenheit von Methylpentose, Galaktose, Glukose und Hexosamin. Der Gehalt an Mannose war so gering, daß der Wert keine Beachtung fand.

Antoine (1) wies im Zervikalsekret während der Ovulationsphase Glukose, Maltose und Glykogen in wechselnder Verteilung nach.

Die im Zervikalsekret gefundene Glukose wird zum größten Teil durch hydrolytische Spaltung des Glykogens im Zervikalkanal gebildet. Zu diesem Schluß kamen Doyle und Ewers (13) durch das positive Untersuchungsergebnis der Glukosebestimmung bei einer Patientin, die oberhalb der Zervix hysterektomiert war, deren Ovarien aber belassen wurden. Eventuell kann ein geringer Anteil der Glukose des Zervikalsekretes von aspiriertem Liquor folliculi stammen.

Auch Birnberg, Kurzrok und Laufer (7) halten die Glukose des Zervikalsekretes für das Produkt der im Zervikalkanal ablaufenden Hydrolyse des Glykogens. Shettles (32) fand beim Menschen eine geringe Menge freier Glukose, die weniger als 1/6 der gesamten Zuckermenge betrug. Dieser Glukosegehalt unterliegt keinen zyklusbedingten Schwankungen. Er schließt daraus, daß diese Glukose aus dem Uterus ausgeschieden wird. Im Gegensatz dazu bezeichnet er die in Form von Glykogen vorliegende Glukose als einen Bestandteil des Zervikalsekretes.

Die Menge der reduzierenden Substanzen des Zervikalsekretes unterliegt zyklischen Schwankungen.

Soszka (36) bestimmt in Untersuchungen den Glykogengehalt des Zervikalsekretes bei der Frau. Durch Hydrolyse des Glykogens kommt er zur Glukose. Diese nimmt er als Maß für die Menge der reduzierenden Substanzen. Seine Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

	Gewicht d. Schleimes	Wasser-gehalt	Reduzierende Substanzen
Follikel-phase	191,9 mg	96,4 %	399,5 mg %
Ovulations-phase	395,5 mg	98,0 %	298,9 mg %
Corp. lut. Phase	52,3 mg	87,0 %	1 755,0 mg %
Anovulat. Zyklus	168,8 mg	96,8 %	329,0 mg %

Das Resultat zeigt, daß während der Ovulationsphase die Menge der reduzierenden Substanzen am geringsten ist, um anschließend in der Luteinisierungsphase ihren höchsten Wert zu erreichen. Im anovulatorischen Zyklus ist entwe-

der kein Glykogen vorhanden oder der Gehalt ist sehr gering und unterliegt keinen zyklischen Schwankungen.

Auch Viergiver und Pommerenke (37, 38) bestimmten den Glukosegehalt und nahmen ihn als Maß für die Menge der reduzierenden Substanzen im Zervikalsekret bei der Frau. Sie verwendeten für ihre Bestimmung die Schaffer-Hartmann Reaktion, bei der allein durch Glukose eine Reduktion stattfindet. Ihre Untersuchungsergebnisse stimmen mit denen von Soszka überein. Während der Ovulationsphase ist die Menge der reduzierenden Substanzen im Zervikalschleim am geringsten. Diese Abnahme ist wirklich und nicht der Lösung in einer größeren Menge Sekret zuzuschreiben.

Antoine (1) hingegen vertritt die Meinung, daß die Menge der reduzierenden Substanzen während der Ovulationsphase ansteigt, und der Gehalt an Zuckern zum Zeitpunkt der Ovulation am höchsten ist. Er bringt diesen Höchststand mit der ernährenden Funktion der Zucker für die Spermatozoen in Einklang. Dieser größte Gehalt an Zuckern ist absolut und durch die Menge des Schleimes bedingt, die Konzentration sinkt während der Ovulation beträchtlich herab.

Auch Doyle und Ewers (13) bestätigen ein Anwachsen des Glukosegehaltes während der Ovulationsphase.

Cohen (11) untersuchte den Zervikalschleim von 63 Patientinnen während 95 Zyklen auf seinen Gehalt an Glukose. Er stellte während der Ovulationsphase einen durchschnittlichen Gehalt an reduzierenden Substanzen von 97 mg % fest und vertritt die Meinung, daß der Glukosegehalt zum Zeitpunkt der Ovulation ansteigt, um dann wieder abzusinken. Der Autor hält die Untersuchung auf den größten Glukosegehalt im Zervikalsekret der Frau als Ovulationsbestimmungsmethode für verwendbar.

Birnberg, Kurzrock und Laufer (7) stellen während des Zyklus eine Abnahme in der Konzentration der reduzierenden Substanzen im Zervikalsekret fest, mit einem Konzentrationsminimum zum Zeitpunkt der Ovulation.

In einer Arbeit über die chemische Zusammensetzung des Zervikalsekretes beim Rind gibt Boyland (8) die Menge der Glukose während des Oestrus, Dioestrus und der Trächtigkeit an. Sie beträgt während des Oestrus 40 bzw. 46 % der organischen Substanzen im Gegensatz zu 34 bzw. 23 % während des Dioestrus und 24 % während der Trächtigkeit. Auch hier ist eine deutliche Zunahme des Glukosegehaltes zum Zeitpunkt der Ovulation zu verzeichnen. Das Sekret des Oestrus enthält hauptsächlich Kohlehydrate und vielleicht Mukopolysaccharide, während der Hauptbestandteil des Sekretes von Kühen im Dioestrus

und während der Trächtigkeit Polysaccharide und Eiweiß sind.

Ob der Gehalt des Zervikalsekretes an reduzierenden Substanzen auch für die Wanderung der Spermien von maßgebender Bedeutung ist, bedarf noch der Klärung.

Während Yamane und KoKato (zit. nach Belonoschkin (40)) in der Glukose eine für die Spermien energieliefernde und lebensverlängernde Substanz sehen, stimmen MacLeod (zit. nach Viergiver und Pommerenke (24)), Belonoschkin (4) und Antoine (1) darin überein, daß der Zucker im Zervikalsekret nur ein spermienfreundliches Milieu schafft und keine Energie liefert.

Cohen (11) hält die Tatsache, daß der Glukosegehalt während der Ovulation ansteigt, in physiologischer Hinsicht für einleuchtend, da auch er annimmt, daß die Spermien zur Zeit ihrer Zervixpassage eine vermehrte Menge Zucker für ihre Wanderung benötigen.

Beim Menschen ist nicht nur das Zervikalsekret, sondern auch das Vaginalsekret glykogenhaltig. Dieses Glykogen wird durch die Abschilferung der glykogenhaltigen Zellen des Vaginalepithels frei.

Brüggemann und Mitarbeiter (10) und Beck (3) fanden im Vaginalsekret des Rindes im Mittel 55 mg % reduzierende Substanzen.

Bremicker (9) führte diesbezügliche Untersuchungen außer beim Rind auch beim Schwein durch. Danach enthält 1 g Vaginalsekret beim Rind 1,39 mg, beim Schwein 2,35 mg reduzierende Substanzen im Gegensatz zu 3 bis 6 mg bei der Frau. Auch die reduzierenden Substanzen des Vaginalsekretes werden durch Hydrolyse des Glykogens aus dem Scheidenepithel gebildet. Die Glykogen- bzw. Gesamtkohlehydratwerte in der Scheidenwand des Rindes betragen durchschnittlich 0,09 mg/cm^2, die des Schweines durchschnittlich 0,08 mg/cm^2. Der Gehalt an Glykogen in der Scheidenwand ist bei Rind und Schwein also so gering, daß er nicht in Betracht gezogen werden muß. Man kann daraus schließen, daß das Ausgangsmaterial für die Glukose in der Scheide der Tiere nicht wie beim Menschen aus dem Glykogengehalt der Scheidenwand stammt. Der Traubenzucker im Zervikalsekret der Tiere ist ein durch Hydrolyse entstandenes Spaltprodukt des Zervikalschleimes, der ein Glykoproteid darstellt. Diese Tatsache wird dadurch gefestigt, daß der Glukosegehalt in der Scheide des Rindes fast den gleichen Wert aufweist wie im reinen Zervikalschleim der Frau. Außerdem ergaben die Untersuchungen von Bremicker, daß das diastatische Ferment, das in der Scheide des Menschen den Abbau des Glykogens zur Glukose verursacht, in der Vagina des Rindes fehlt. Der Autor nimmt an, daß die Ver-

hältnisse bei den anderen Tierarten ebenso gelagert sind. Dadurch sind die Fehlermöglichkeiten in der Untersuchung des Zervikalsekretes, die beim Menschen durch eine gelegentliche Berührung des Scheidengewölbes gegeben sind, beim Tier nicht vorhanden.

D. Der Glukose-Test in der Humanmedizin

Die Feststellung der zyklischen Schwankungen in der biochemischen Zusammensetzung des Zervikalsekretes fand in Form des Glukose-Testes als Ovulationsbestimmungsmethode in der Humanmedizin ihre Anwendung. Die Tatsache, daß der Glukosegehalt des Zervikalsekretes zur Zeit der stärksten Follikelhormonwirkung seinen höchsten Wert erreicht, wurde dieser Bestimmungsmethode zu Grunde gelegt.

Doyle und Ewers (13) beschreiben die Durchführung des Glukose-Testes zur Bestimmung der fruchtbaren Periode im Zyklus der Frau. Sie benutzen einen Teststreifen, der mit dem Enzym Glukose - Oxydase imprägniert ist. Die Glukonsäure, die bei Anwesenheit von Orthotolidin durch Peroxydase umgewandelt wird, erzeugt einen blauen Farbstoff, der auf gelbem Papier grün erscheint. Jegliche Farbveränderung, die auf dem Testpapier sichtbar wird, ist bedeutungsvoll. Die Untersuchungen der Autoren haben ergeben, daß das tiefe Grün, das einen hohen Glukosewert anzeigt, beim Menschen synchron mit der Ovulation erscheint. Der Glukose-Test ist im Gegensatz zu anderen Ovulationsbestimmungsmethoden, wie Messen der Basaltemperatur, unbeeinflußbar. Für Diabetiker darf der Test nur von begrenztem Wert sein.

Cohen (11) vergleicht den Glukose-Test mit anderen Ovulationsbestimmungsmethoden. Er empfiehlt die Anwendung des Glukose-Testes in Kombination mit anderen Bestimmungsmethoden. Außerdem müssen die Bestimmungen täglich erfolgen. Es kann jedoch trotz negativem Untersuchungsergebnis eine Ovulation stattfinden.

Untersuchungen von Birnberg, Kurzrok und Laufer (7) ergaben, daß das Glukose-Testpapier schon 2 Tage vor dem theoretischen Ovulationstermin einen Farbumschlag anzeigen kann. Die maximale Farbintensität wird jedoch erst am Tage der Ovulation erreicht. Danach wird die Farbe wieder schwächer und verschwindet nach 2 bis 3 Tagen vollkommen. Die Autoren nahmen parallele Versuche vor, um auszuschließen, daß andere Substanzen diese Reaktion verursachen. Sillő - Seidl (35) bringt in einer Arbeit eine Kritik der verschiedenen Ovulationsbestimmungsmethoden. Er setzt bei dem Glukose-Test die Tat-

sache voraus, daß der Glukosegehalt des Zervikalsekretes zur Zeit der Ovulation am höchsten ist. Die Glukosekonzentration ist zu dieser Zeit durch die vermehrte Schleimsekretion herabgesetzt. Das Auftreten des Konzentrationsminimums findet Sillé-Seidl bei der Anwendung des Glukose-Testes unberücksichtigt. Außerdem kritisiert er, daß die Farbreaktion auf dem Teststreifen beeinflußt wird, wenn dieser mit der Scheidenwand in Berührung kommt. Es werden 87 Untersuchungen mit dem Glukose-Test angeführt und die Ergebnisse als unzuverlässig bezeichnet.

In dieser Arbeit soll geprüft werden, ob eine Bestimmung des Follikelsprunges bei der Hündin durch Nachweis eines während der Ovulationsphase auftretenden Glukosegehaltes im Zervikalsekret möglich ist.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Methodik

Bei der Hündin ist eine sichere Determination des Ovulationszeitpunktes bisher nur mit Hilfe der zytologischen Untersuchung des Vaginalausstriches möglich. Zu den Glukosebestimmungen im Zervikalsekret wurden parallel Ovulationsbestimmungen mit der von Papanicolaou entwickelten Zyklusdiagnose vorgenommen. Das Material für die Zellausstriche wurde jeweils vor der Glukosebestimmung entnommen.

1. Zellausstriche und Aufstellung von Zytogrammen

Die üblichen Methoden der Materialgewinnung mit Hilfe von Spatel oder Mulltupfer konnten bei der Hündin nicht mit zufriedenstellendem Ergebnis angewendet werden. Die besten Erfolge wurden mit der Platinöse erzielt. Es war bei dieser Methode jedoch nicht zu vermeiden, daß auch tiefer gelegene Zellschichten mit erfaßt wurden. Sie störten die Beurteilung der Ausstriche jedoch nicht. Das Zellmaterial wurde entweder vom Dach oder von den Seiten des Scheidengewölbes gewonnen. Die Proben wurden mit der Platinöse vorsichtig auf Objektträgern ausgestrichen, die mit Alkohol entfettet worden waren. Anschließend wurden die Ausstriche in einem Gemisch von 96 %igem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen fixiert. Die Fixierzeit betrug mindestens 30 Minuten. Nach dem Fixieren wurden die Präparate in die modifizierte Küvettenreihe nach Papanicolaou überführt (Kratzheller (21)). Die Färbung eines Präparates erforderte ungefähr eine Zeit von 45 Minuten. Die noch feuchten Ausstriche wurden abschließend mit einem Deckglas geschützt. Nachdem der hierzu verwendete Kanadabalsam getrocknet war, wurden die Präparate im Mikroskop bei 100facher Vergrößerung betrachtet.

Die Aufstellung von Zytogrammen erfordert eine genaue Unterscheidung der in den Ausstrichen auftretenden Zelltypen. Um den Ablauf der Zellbildänderungen zu dokumentieren, wurden die Vaginalausstriche quantitativ in Anlehnung an eine von Schmitt (31) beschriebene Methode ausgewertet. Es fanden hierbei nur die 4 Zelltypen Beachtung, deren Auftreten als typisches Zeichen für den Ablauf der Follikelphase gilt.

Es handelt sich bei diesen Gruppen um die zu Beginn der Follikelphase auftretenden Oberflächenzellen des Stratum superficiale (Zellgruppe 1), um die Oberflächenzellen mit beginnender Verhornung des hyalinen und strukturlosen Plasmas

(Zellgruppe 2), um die Oberflächenzellen mit den pyknotischen Kernen und den typischen gefalteten oder eingerollten Rändern (Zellgruppe 3) und die ebenso geformten, leuchtend rot gefärbten Zellen der Zellgruppe 4.

Bei der von Schmitt beschriebenen Auswertmethode werden die Zellen nicht ausgezählt, sondern in ihrer Mengenverteilung geschätzt. Bei dieser Methode ist eine graphische Darstellung der Ergebnisse mit Hilfe einer Kurve möglich. Bei dem Auszählverfahren nach Papanicolaou wird dagegen jeder Zelltyp in einer eigenen Kurve festgehalten.

In der Kurvendarstellung wurden die Zellgruppe 1 bis 4 als Grad 1 bis 4 bezeichnet. Zwischen je 2 Graden wurden noch 2 Zwischengrade gebildet. Traten zum Beispiel in einem Ausstrich außer Zellen der Gruppe 1 auch solche der Gruppe 2 auf, so wurde je nach Überwiegen der einen oder der anderen Gruppe die Bezeichnung Grad 1-2 oder Grad 2-1 gewählt. Zum Vergleich wurden einige Ausstriche nach dem Zählverfahren ausgewertet. Die Höhepunkte der Azidophiliekurve nach den Zählverfahren von Papanicolaou und der von Schmitt entwickelten Kurve deckten sich.

2. Glukosebestimmungen

Das für die Glukosebestimmungen verwendete Glukotest-Papier+ ist ein Harnzuckerteststreifen von hellgelber Farbe. Das Papier ist mit den Enzymen Glukoseoxydase und Peroxydase imprägniert. Mit Glukoseoxydase als Katalysator wird Glukose unter Mitwirkung von Flavinadenindinucleotid durch Luftsauerstoff zu Glukonsäure oxydiert. Bei diesem Vorgang entsteht Wasserstoffsuperoxyd, das weiter umgesetzt wird. H_2O_2 oxydiert durch Peroxydase den Wasserstoffdonator AH_2, der dabei in den grünen Farbstoff A übergeht. Die Menge des gebildeten Farbstoffes gibt also die vorhandene Glukosemenge an. Die verschiedenen Glukosekonzentrationen werden auf einer Farbskala angegeben, die von der Farbe gelb = 0 % über hellgrün = 0,1 %, grün = 0,25 %, dunkelgrün = 0,5 % bis blaugrün = 2 % und mehr reicht. (Hauck (20)).

Zu Beginn der Untersuchungen wurde das Glukotest-Papier auf seine Glukosespezifität und die zuverlässige Angabe der Glukosekonzentration geprüft. Beim Eintauchen des Streifens in je 2 %ige Mannose-, Fruktose- und Galaktose-Lösung zeigte sich keine Verfärbung des Papieres. Beim Anfeuchten mit

---

+) Das Testpapier wurde dankenswerter Weise von der Firma C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim, zur Verfügung gestellt.

2 %iger Traubenzuckerlösung erfolgte eine intensive Blaugrünfärbung. Die Prüfung der Konzentrationsangaben geschah mit Hilfe einer 0,1 %igen, 0,25 %-igen, 0,5 %igen und 2 %igen Glukoselösung. Die auftretenden Verfärbungen des Glukotest-Papieres entsprachen völlig den Angaben der Farbskala. Abschließend sei noch erwähnt, daß die Genauigkeit der Glukotest-Methode in einem pH-Bereich von 2 bis 9 keine Veränderungen erfährt.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe des Vaginoskopes "Modell München" (Baier und Rüsse (2)) vorgenommen. Das Glukotest-Papier wurde in einem für diesen Zweck angefertigten Gerät befestigt. Dieses Gerät besteht aus einem 35 cm langen Metallstab von etwa 35 mm Dicke. An dem einen Ende befindet sich ein Griff, das andere ist in einer Länge von 10 cm gespalten. An den sich zugekehrten Flächen des gespaltenen Teiles sind je 2 Spitzen angebracht, mit den entsprechenden Vertiefungen auf der gegenüberliegenden Seite. Mit einem auf dem Stab verschieblichen ovalen Metallstück ist der Spalt zu schließen.

Die Untersuchungen der Hündinnen wurden in folgender Weise durchgeführt:

In den Spalt des Spezialgerätes wurde ein etwa 4 cm langer Glukotest-Streifen eingeklemmt und der Spalt mit dem Metallstück geschlossen. Ein Vaginoskop in einer der Hündin entsprechenden Größe wurde vorsichtig eingeführt und die Umgebung des äußeren Muttermundes eingehend betrachtet. Durch das Rohr des Vaginoskopes wurde anschließend der Stab mit dem Glukotest-Streifen bis an die Zervix geführt und diese einige Sekunden lang touchiert, bis eine Durchfeuchtung des Papieres mit Zervikalsekret zu erwarten war. Der Stab wurde wieder herausgezogen und unter vorsichtigem Zurückführen des Vaginoskopes die Schleimhaut des Scheidengewölbes betrachtet. Eine aufgetretene Farbveränderung war nach 3 bis 5 Minuten abzulesen.

Bei den Hündinnen, die für die Untersuchungen zur Verfügung standen, handelte es sich um geschlechtsreife Tiere unterschiedlicher Rasse und verschiedenen Alters. Die Tiere wurden bis auf 3 klinikeigenen Versuchshündinnen in die gynäkologische Klinik zur Läufigkeitsüberwachung eingeliefert oder kamen zur ambulanten Untersuchung. Bei allen Tieren wurde mindestens eine Brunstperiode untersucht, bei einigen Hunden fanden die Glukosebestimmungen während mehrerer Zyklen statt. Einige Tiere wurden nur bis zur Bestimmung des Decktermines untersucht. Die Untersuchungen erfolgten täglich 1 bis 2mal.

Über die klinischen Befunde und die makroskopisch sichtbaren Veränderungen an der Portio vaginalis und der Vaginalschleimhaut wurde Protokoll geführt.

B. Untersuchungsergebnisse

Die Glukosebestimmungen wurden während 48 Brunstperioden an 30 läufigen Hündinnen vorgenommen. Die Ergebnisse sind in Tabelle I aufgezeichnet. Die Aufstellung ermöglicht einen Vergleich der Zyklusabläufe der Hündinnen miteinander in Bezug auf den auftretenden Glukosewert. Als Läufigkeitsbeginn wurde das erste Auftreten der sichtbaren Blutungen gewertet, das entweder von den Besitzern erfragt oder selbst beobachtet wurde.

Während der ersten Woche der sichtbaren Brunst wurde bei keiner Hündin ein positiver Glukosegehalt im Zervikalsekret festgestellt. Bei einem Boxer (Protokoll Nr. 46) konnte erstmals am 9. Tage der Läufigkeit ein Glukosewert verzeichnet werden. Zwischen 9. und 17. Tag waren die Glukosebestimmungen während der Sexualperioden der Hündinnen positiv. Eine Gesetzmäßigkeit konnte weder in der Menge der aufgetretenen Glukose noch in der Dauer ihres Vorhandenseins im Sekret festgestellt werden. Während bei einigen Hunden ein Glukosegehalt nur an einem Läufigkeitstage registriert wurde, zeigten andere ein 3, teilweise 4 Tage anhaltendes positives Untersuchungsergebnis. Die Menge der mit dem Glukotest festgestellten Glukose im Zervikalsekret differierte zwischen 1/10 mg% und 1/2 mg%, der durchschnittliche Wert lag bei 1/4 mg% Glukose. Einige Untersuchungen, die einen positiven Glukosewert an mehreren Tagen ergaben, zeigten einen langsamen An- bzw. Abstieg der Glukosemenge. Bei anderen Hündinnen trat eine intensive Grünfärbung des Glukotest-Papieres plötzlich an einem Tage auf, um ebenso schnell wieder zu verschwinden. Wieder andere zeigten nur eine schwache, kurzwährende oder länger anhaltende Grünfärbung. Nur bei 2 der untersuchten Hündinnen konnte an keinem Tag des Brunstzyklus ein positiver Glukosegehalt im Zervikalsekret verzeichnet werden.

Die Veränderungen an den äußeren Genitalorganen der Hündinnen während der Zyklen wurden zu den Glukoseuntersuchungen des Zervikalsekretes in Vergleich gesetzt.

Als äußere Brunstsymptome wurden die Beschaffenheit des Sekretes, die Schwellung der Vulva, das Aussehen der Vaginalschleimhaut und das Bild des äußeren Muttermundes mit einer eventuellen Öffnung des Zervikalkanales gewertet.

Während bei den meisten Tieren die starke Schwellung der Vulva über den Zeitpunkt des positiven Glukosegehaltes im Sekret hinaus anhielt, war ein Umschlag des blutigen Sekretes zum klaren oder milchig trüben Ausfluß meist

schon vor dem Auftreten der Glukose im Zervikalschleim zu verzeichnen. Bei einigen Hunden hielt der blutige Ausfluß über diesen Zeitpunkt hinaus an.

Der positive Glukosegehalt des Zervikalsekretes war regelmäßig mit einer Öffnung des Zervikalkanales vergesellschaftet. Zu diesen Zeitpunkten war ein Einführen des Untersuchungsstabes in den Zervikalkanal fast immer möglich.

Jedoch differierte der Grad der Öffnung bei den verschiedenen Hündinnen sehr voneinander.

Die Hyperplasie der Vaginalschleimhaut zeigte keine deutlichen, vom Follikelsprung abhängigen Veränderungen.

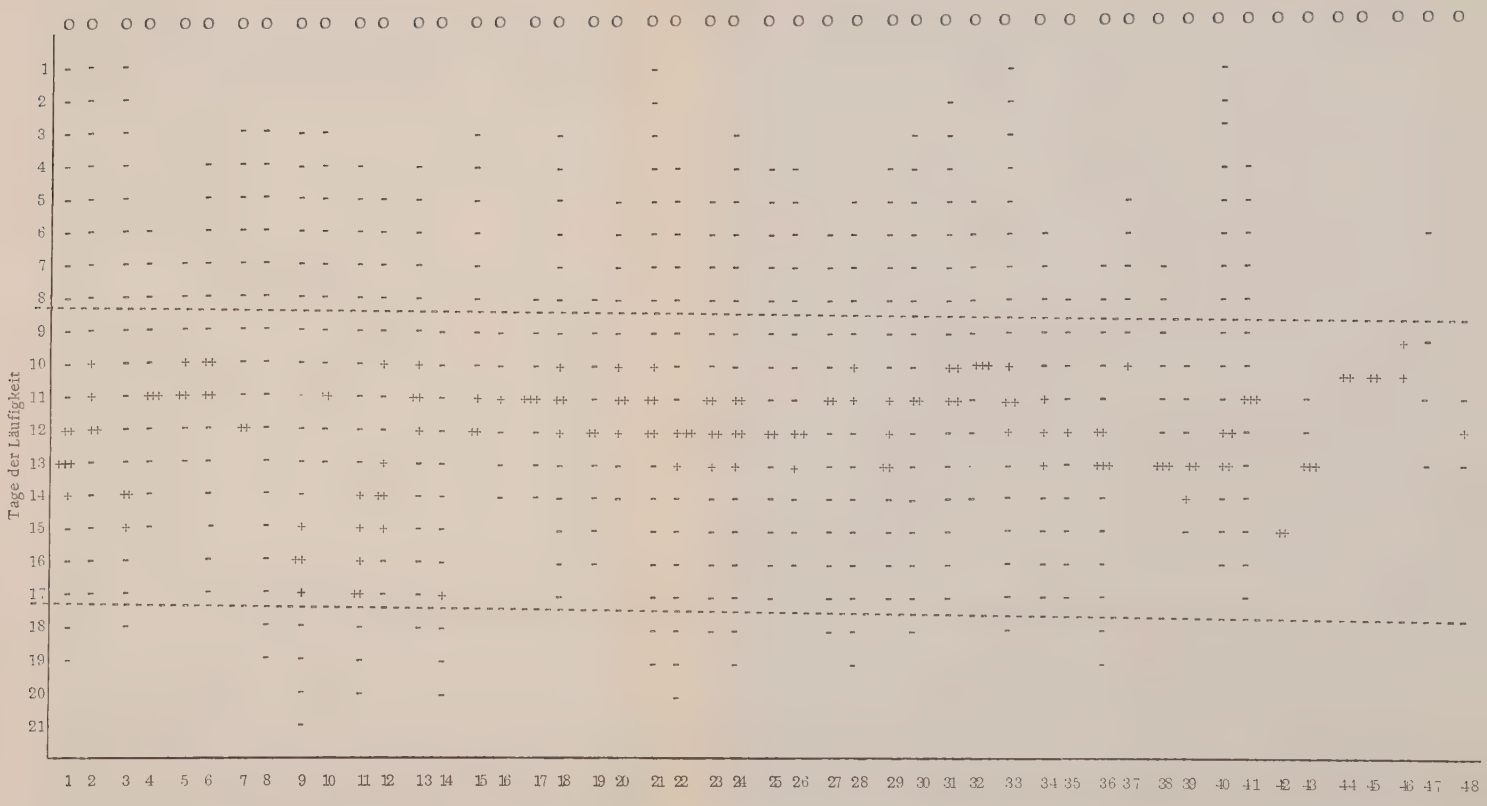
Zu erwähnen ist noch, daß die meisten Hündinnen um den Zeitpunkt des positiven Glukosegehaltes fast keine Abwehrbewegungen beim Einführen des Vaginoskopes zeigten. Bei der Begegnung mit einem Rüden zeigten sich diese Hündinnen deckbereit. Von den untersuchten Hündinnen wurden 5 Tiere am Tage des positiven Glukosegehaltes im Zervikalsekret gedeckt. Alle 5 Hündinnen wurden trächtig.

Die Schäferhündin, Protokoll Nr. 37 wurde in die Klinik zur Decktermin-bestimmung gebracht, da sie bei beiden vorhergehenden Läufigkeiten den Rüden wohl bis zum 17. Tage des Zyklus angenommen hatte, jedoch keine Konzeption erfolgt war. Auf Grund der Untersuchungen wurde der 10. Tag des Brunstzyklus als günstiger Decktermin empfohlen. Die Hündin brachte am 62. Tag der Trächtigkeit einen Wurf mit 12 Jungen.

In Tabelle II werden die verschiedenen Zyklen der jeweiligen Hündinnen gegenübergestellt. Die Untersuchungen ergaben eindeutig, daß bei keiner Hündin eine Regelmäßigkeit im Zeitpunkt des Auftretens noch in der Höhe des gefundenen Glukosewertes im Zervikalsekret besteht.

Die 2 Hündinnen, bei denen während der Brunst keine Glukose im Zervikalsekret nachweisbar war, wiesen bei vaginoskopischer Betrachtung auf das Bestehen einer glandulär zystischen Hyperplasie hin. Da eine Unterfunktion der Ovarien als Ursache für diese Erkrankung angenommen werden kann, wird die zu geringe Oestrogenproduktion als Grund für das negative Glukoseergebnis vermutet.

Tabelle I



Zeichenerklärung: O = Beginn der Läufigkeit; - = negativer Glukosegehalt; + = 1/10 mg% Glukosegehalt; ++ = 1/4 mg% Glukosegehalt; +++ = 1/2 mg% Glukosegehalt

T a b e l l e II

Tage der Läufigkeit	1a	1b	1c	1d	2a	2b	2c	3a	3b	3c	3d	3e	4a	4b	4c	4d	5a	5b	6a	6b	7a	7b	8a	8b
	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
1	-					-		-				-	-											
2	-			-		-		-				-	-											
3	-			-	-	-	-	-	-			-	-	-			-		-					
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-		-		-		-		-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	+	-	++	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+++	-	-	++	-
11	-	++	-	++	-	++	++	+	-	++	+	++	-	++	-	+	++	++	++	-	-	-	++	+++
12	-	+	++	-	++	++	-	++	-	++	+	+	++	-	+++	-	+	-	++	-	++	++	-	-
13	-	-	-	-		-	-	-	-	+	++	-	+++	-	+	-	-	-	+	-	+	+++	-	-
14	++	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	+		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-		-	-	-	+	-	-	-	-		-	-	-	-	-		-	-	-	
16	-	-	-	-		-	-	-	++	-	-	-	-		-	-	-	-	-		-	-	-	
17	-	-	-	-		-	-	-	+	-	-	-	-		-	-	-	-	-			-	-	
18	-	-				-	-		-	-		-	-		-	-		-	-			-		
19						-			-				-		-	-			-			-		
20									-						-									
21									-															

Protokoll-nummem der untersuchten Hündinnen bzw. ihrer Zyklen

Zeichenerklärung: O = Beginn der Läufigkeit; - = negativer Glukosegehalt; + = 1/10 mg% Glukosegehalt; ++ = 1/4 mg% Glukosegehalt; +++ = 1/2 mg% Glukosegehalt

C. Zytogramme

Zu den Zyklusabläufen von 10 Hündinnen ist der Verlauf der Zellbildveränderungen in Zytogrammen graphisch dargestellt worden. Um den Azidophilieindex, der mit dem Beginn der Ovulationsphase zusammenfällt, mit dem Glukosegehalt des Sekretes in Korrelation zu bringen, wurde der aufgetretene Glukosewert in dem entsprechenden Zytogramm in einer Zacke festgehalten.

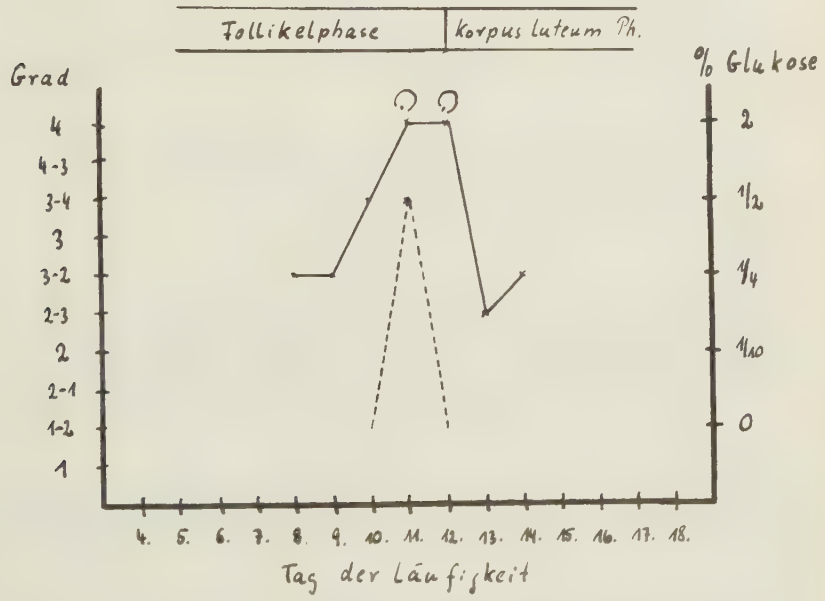
Zeichenerklärung:

——— = Zellkurve

- - - - - - - - = Glukosezacke

⌒ = Zeitpunkt des Follikelsprunges nach Zellausstrich

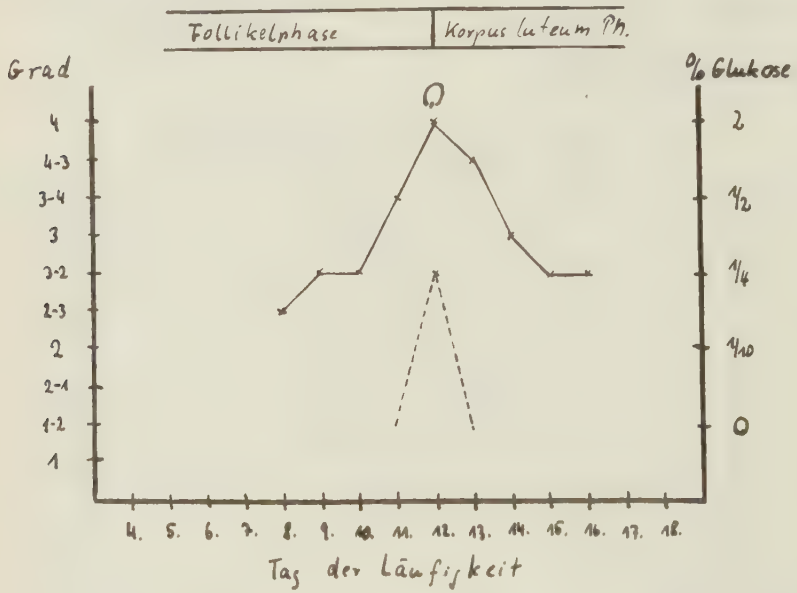
Zytogramm Protokoll Nr. 17



Das erste Auftreten vereinzelter azidophiler Zellen war 5 Tage vor Beginn der Corpus luteum-Phase festzustellen. Die Anzahl der Zellen war am 8. und 9. Tage jedoch so gering, daß die Werte nicht registriert wurden. Es traten an diesen beiden Tagen des Zyklus vor allem verhornende basophile Oberflächenzellen mit Kernpyknose der Zellgruppe 3 auf, vergesellschaftet mit ebensolchen ohne Kernveränderungen. Am 10. Läufigkeitstag traten die azidophilen Zellen vermehrt auf, deren solitäres Erscheinen am 11. und 12. Tage vermutlich mit dem Ovulationszeitpunkt zusammenfiel. Es kam dann zu einem verhältnismäßig steilen Kurven-

abfall. Am ersten Tag der Corpus luteum-Phase traten die azidophilen Zellen nur noch vereinzelt auf, verhornende basophile Zellen mit und ohne Kernpyknose zu gleichen Teilen bestimmten das Ausstrichbild. Der aufgetretene Glukosegehalt des Zervikalsekretes deckte sich mit dem ersten Höhepunkt der Zellkurve, er fiel am 11. Tage des Brunstzyklus mit dem alleinigen Auftreten der azidophilen Zellen zusammen.

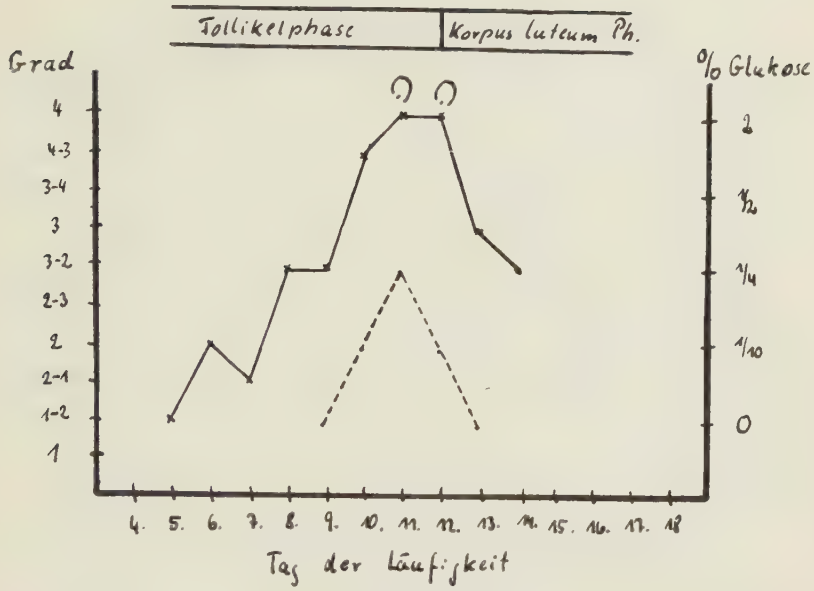
Zytogramm Protokoll Nr. 19



Im letzten Drittel der Follikelphase traten die azidophilen Zellen erstmalig im Zellbild in Erscheinung. Ihre Anzahl war aber erst am 11. Läufigkeitstage registrierbar. Die Zahl der Azidophilen erreichte am 12. Läufigkeitstage ihren Höhepunkt, um dann langsam wieder abzufallen. Am 2. Tag der Follikelphase bestimmten basophile verhornende Zellen mit Kernpyknose das Ausstrichbild.

Der Gipfel der Glukosezacke fiel mit dem Höchstwert der Zellkurve zusammen.

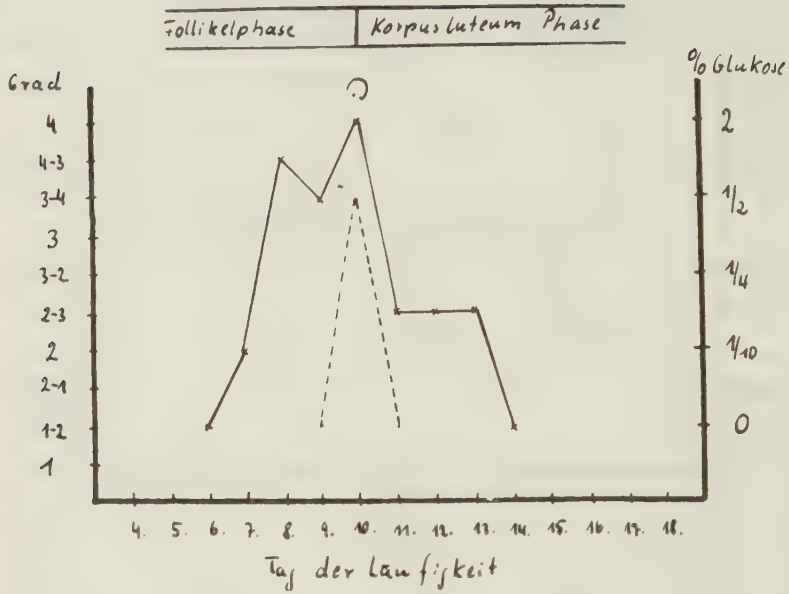
Zytogramm Protokoll Nr. 20



Am 8. Tag der Follikelphase traten, gleichzeitig mit dem ersten Erscheinen der basophilen verhornenden Oberflächenzellen mit Kernpyknose der Zellgruppe 3 azidophile Zellen der Gruppe 4 auf. Am 11. und 12. Tage der Follikelphase beherrschten sie allein das Zellbild, um danach rasch wieder zu verschwinden.

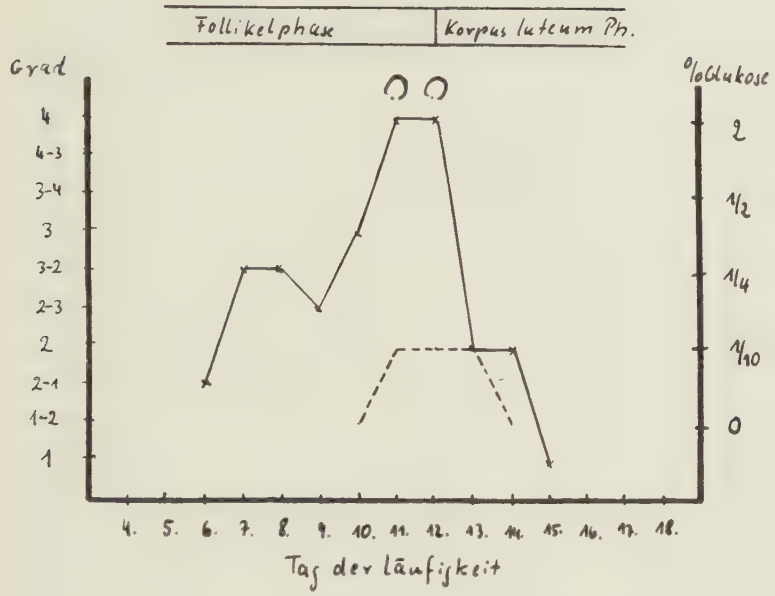
Ein positiver Glukosegehalt war am 10., 11. und 12. Zyklustag zu verzeichnen, der höchste Glukosegehalt des Zervikalsekretes mit 1/4 mg% wurde jedoch nur am 11. Tage erreicht.

Zytogramm Protokoll Nr. 32



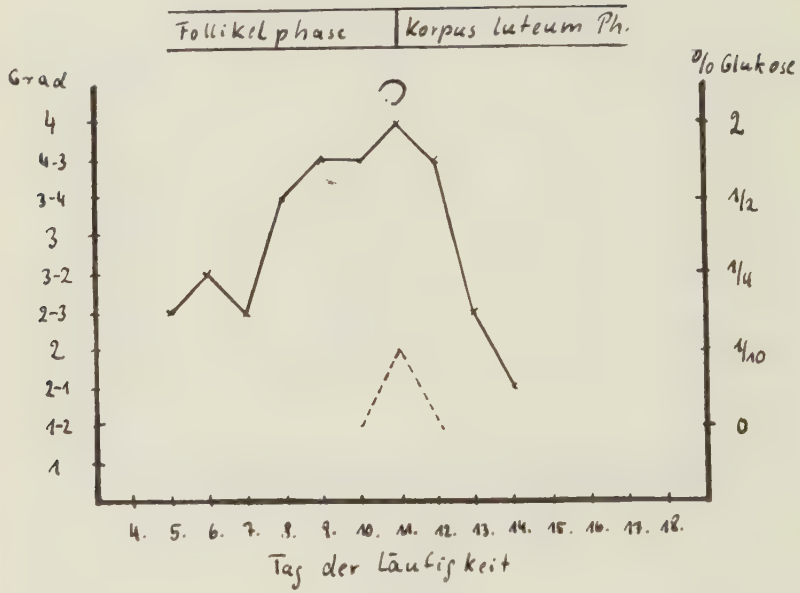
Bei dieser Hündin konnte das erste Erscheinen azidophiler Zellen am 3. Tage der Follikelphase festgestellt werden. Eine nennenswerte Anzahl dieser Zellen zeigte sich jedoch erst am 7. Tage, die Zahl verschob sich am 8. Tage zugunsten der basophilen verhornenden Zellen der Gruppe 3, um am 9. Tage des Brunstzyklus den Höhepunkt zu erreichen. Ein steiles Abfallen der Kurve bis zum 10. Läufigkeitstage bestätigte den Beginn der Luteinisierungsphase. Mit dem Höhepunkt der Zellkurve kongruierte der Gipfel der Glukosezacke, die einen Wert von 1/2 mg% erreichte.

Zytogramm Protokoll Nr. 34



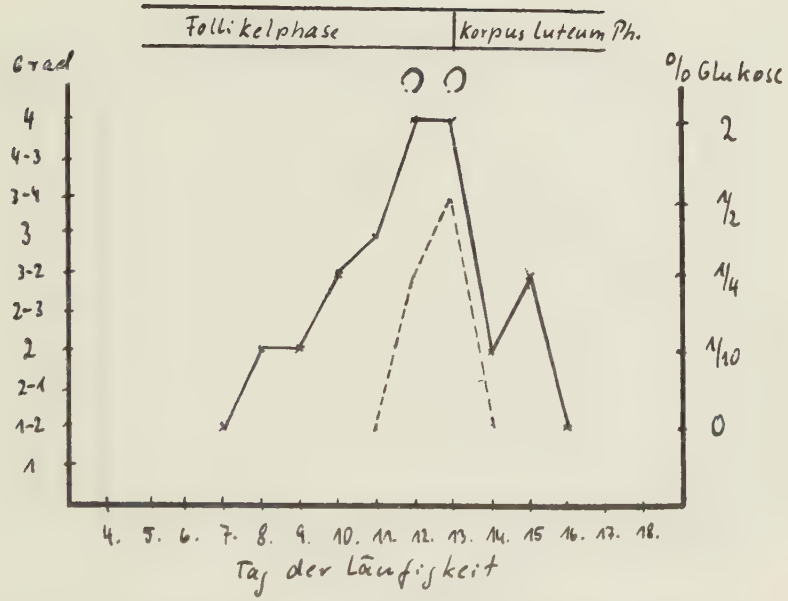
Im Zellbild dieser Hündin traten am 11. und 12. Zyklustage die verhornten azidophilen Oberflächenzellen allein im Ausstrichpräparat auf. Vereinzelt auftretende Zellen dieser Gruppe konnten schon vom 7. Tage an beobachtet werden. Der Glukosewert von je 1/10 mg% trat an 3 aufeinanderfolgenden Tagen auf. Die ersten 2 Erscheinungstage trafen mit den Höhepunkten der Zellkurve zusammen, am 13. Tage, an dem ebenfalls dieser Glukosewert verzeichnet wurde, war nur noch eine geringe Anzahl azidophiler Zellen im Präparat sichtbar.

Zytogramm Protokoll Nr. 35



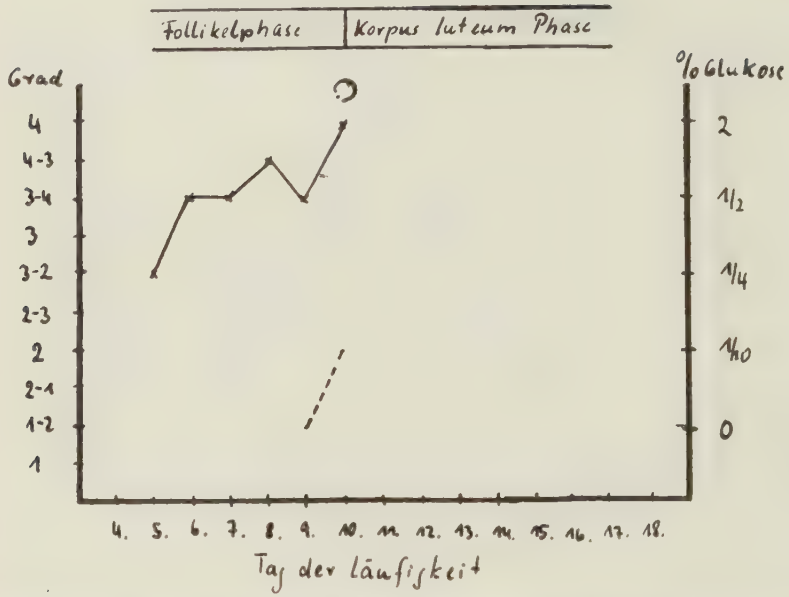
Das Zytogramm der Hündin wies ein allmählich stärkeres Hervortreten der azidophilen Zellen auf, die am 11. Tage des Zyklus das Zellbild beherrschten. Auch der Abfall der Kurve verlief allmählich. Der Gipfel der Glukosezacke fiel mit dem aus dem Zytogramm ersichtlichen, vermutlichen Ovulationstermin zusammen.

Zytogramm Protokoll Nr. 36



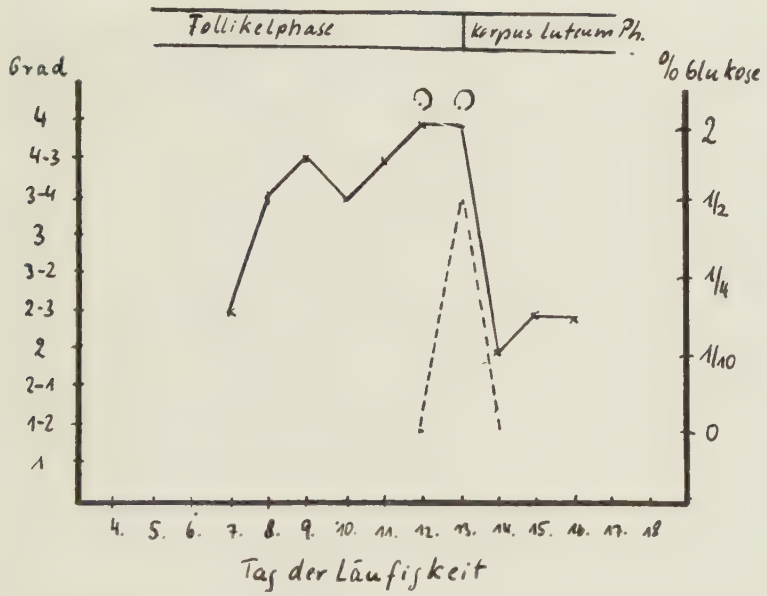
Diese Hündin zeigte einen 2 Tage anhaltenden Höchstwert der azidophilen Zellen, der auf den 12. und 13. Zyklustag fiel. Am 14. Tage, dem ersten Tag der Luteinisierungsphase, kam es zu einem steilen Abfall der Kurve, es traten im Zellbild vorwiegend basophile verhornende Zellen ohne Kernpyknose auf, Zellen der Gruppe 2. Am folgenden Tage kam es in dem Vaginalausstrich zu einem Überwiegen der basophilen Zellen, mit pyknotischen Kernen und zum Wiederauftreten vereinzelter azidophiler Zellen. Am 12. und 13. Tage war auch ein positiver Glukosegehalt im Zervikalsekret zu verzeichnen. Es bestand ein Unterschied in der Konzentration, die den höchsten Wert mit 1/2 mg% am 13. Zyklustage erreichte.

Zytogramm Protokoll Nr. 37



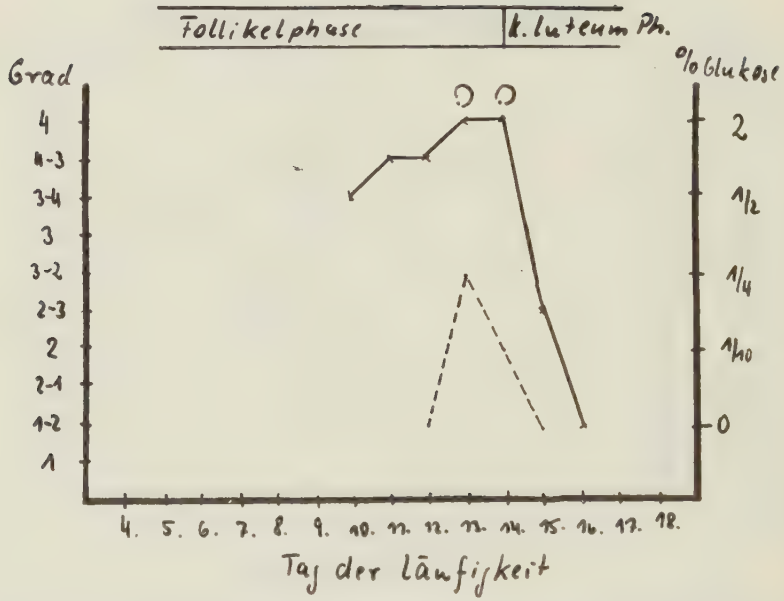
Im letzten Drittel der Follikelphase wurde das Zellbild der Hündin von den basophilen Oberflächenzellen der Gruppe 3 beherrscht. Diese waren mit einer mehr oder weniger großen Anzahl azidophiler Zellen vergesellschaftet. Der Höhepunkt der azidophilen Zellen wurde gleichzeitig mit dem erstmals auftretenden Glukosewert von 1/10 mg% am 10. Zyklustage erreicht. Die Hündin wurde an diesem Tage gedeckt, sie wurde trächtig.

Zytogramm Protokoll Nr. 38



Eine beträchtliche Anzahl azidophiler Zellen trat bei der Hündin am 8. Tage der Follikelphase auf. Ihre Zahl verminderte sich nochmals am 10. Tage zugunsten der basophilen verhornenden Oberflächenzellen mit Kernpyknose, um am 12. und 13. Tage des Brunstzyklus alle anderen Zelltypen zu verdrängen. Es kam dann zu einem steilen Abfall der Kurve, die sicher im Zellbild vorhandenen Zellen der Gruppe 3 traten kaum in Erscheinung, sie wurden vermutlich von den Zellen der Gruppe 2 im Bild überdeckt. Die Glukosezacke wies nur am 13. Zyklustage einen Gipfel auf, der einem Glukosegehalt von 1/2 mg% entsprach. Am 12. und 14. Tage hielt sie sich auf der Nullinie.

Zytogramm Protokoll Nr. 39



Der erste Höhepunkt der Azidophilen am 13. Tage der Follikelphase fiel zeitlich mit dem Gipfel der Glukosezacke, der bei 1/4 mg% lag, zusammen. Dem 14. Tage, an dem ebenfalls ein solitäres Erscheinen der azidophilen Oberflächenzellen im Ausstrichbild vorlag, entsprach nur noch ein Glukosegehalt von 1/10 mg%. Die Zellkurve fiel, im Gegensatz zu ihrem allmählichen Anstieg, am 1. und 2. Tage der Luteinisierungsphase steil ab.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Mit Ausnahme von 2 Hündinnen, die die Symptome einer glandulär zystischen Hyperplasie zeigten, konnte während jeder Brunstperiode mindestens an einem Tag ein Glukosegehalt im Zervikalsekret festgestellt werden.

Nur bei einer Hündin war ein 4 Tage anhaltender Zuckergehalt im Fluor zu verzeichnen. Die meisten Hündinnen zeigten nur an einem Tage eine positive Reaktion, bei 12 bzw. 13 Tieren war ein Glukosewert 2 bzw. 3 Tage lang feststellbar. Am frühesten trat die Glukose bei einem Hund am 9. Tage der sichtbaren Brunst in Erscheinung, bei einem anderen Hund wurde erst am 17. Tage des Zyklus ein positives Ergebnis gewonnen. Es liegen keine Gesetzmäßigkeiten in der Höhe der auftretenden Glukosemenge vor. Es zeigte sich bei manchen Hündinnen nur eine geringe Grünfärbung des Testpapieres, während bei anderen Tieren die Durchfeuchtung des Glukoteststreifens mit dem Zervikalsekret eine intensive Grünfärbung hervorrief. Der Vergleich mehrerer Zyklusabläufe bei derselben Hündin ergab, daß individuelle Schwankungen bestehen. Diese beziehen sich sowohl auf die Menge der auftretenden Glukose wie auf den Zeitpunkt ihres Erscheinens im Zervikalsekret.

Die zyklusbedingten Veränderungen, die an der Zervix ablaufen, erreichten bei den untersuchten Hündinnen zur Zeit des auftretenden Glukosegehaltes ihren Höhepunkt. Dieser zeigte sich in der maximalen Schwellung der Zervix und in einer relativ weiten Eröffnung des Zervikalkanales.

Nicht immer parallel mit den chemischen Veränderungen des Zervikalsekretes der Hündinnen verlief der Umschlag des blutigen, meist lackfarbenen Ausflusses zum klaren oder milchig trüben Brunstschleim. Während bei einigen Hündinnen schon 2 bis 3 Tage vor dem Auftreten der Glukose der Umschlag vonstatten ging, zeigten andere auch noch nach Absinken des Glukosewertes einen blutigen Fluor. In etwa konnte aus dem Verhalten der Deckbereitschaft der Hündinnen bei den Untersuchungen geschlossen werden, welches Ergebnis beim Glukotest zu erwarten war.

5 der untersuchten Hündinnen wurden am Tage des höchsten Glukosewertes gedeckt. Alle Hündinnen wurden trächtig.

Zur Überprüfung der Vermutung, daß auch bei der Hündin der Gehalt des Zervikalsekretes an Glukose um die Ovulation auftritt, bzw. am höchsten ist, wurde die Zytodiagnose zur Bestimmung dieses Zeitpunktes herangezogen

und mit den Ergebnissen des Glukotestes in Beziehung gebracht.

Da nur die Determination des Ovulationszeitpunktes von Bedeutung war, wurde das Anfertigen der Abstriche auf einige Tage vor und nach dem mutmaßlichen Follikelsprung beschränkt. Man kann aus diesen Abstrichen mit einiger Sicherheit die genaue Zeit des Follikelsprunges ersehen, da es zu dieser Zeit zum gehäuften Auftreten azidophiler verhornter Oberflächenzellen kommt, die teilweise sogar das gesamte Zellbild beherrschen. Der färberisch erkennbare Reifungsprozeß der Oberflächenzellen wurde in einer Kurve festgehalten, deren Höhepunkt, das alleinige Auftreten der azidophilen Zellen und ihre Zusammenballung bei beginnender Desquamation des Stratum corneum, mit dem Ovulationstermin zusammenfällt. Der Vergleich des Glukosegehaltes mit diesen, aus den Zellbildern gewonnenen Kurven ergibt, daß der Höhepunkt der Glukosezacke bei jeder der 10 Hündinnen, von denen ein Zytogramm erstellt wurde, mit einem Höhepunkt der Azidophiliekurve zusammenfällt. Nur in einem Fall (Zytogramm Protokoll Nr. 34) konnte auch noch nach dem fast völligen Verschwinden der azidophilen Oberflächenzellen ein positiver Glukosewert bei den Untersuchungen verzeichnet werden. Diese Versuche erlauben die Folgerung, daß das Auftreten von Glukose im Zervikalsekret als Zeichen für die ablaufende Ovulation angenommen werden kann.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurden 48 Läufigkeitsperioden von 30 Hündinnen auf den Glukosegehalt im Zervikalsekret untersucht. Der Zervikalschleim wurde täglich 1 bis 2mal mit Glukotest-Boehringer auf den Glukosegehalt geprüft.

2. In allen Fällen konnte gleichzeitig mit der Deckbereitschaft der Hündin und der maximalen Öffnung des Zervikalkanales Glukose im Zervikalsekret festgestellt werden.

3. Bei 10 Hündinnen wurde gleichzeitig die Determination des Ovulationszeitpunktes mittels der Zellfärbung nach Papanicolaou bestimmt. In allen Fällen ist eine zeitliche Übereinstimmung des Glukosevorkommens mit dem maximalen Auftreten der azidophilen Oberflächenzellen zu verzeichnen.

4. Der Glukotest im Zervikalsekret gestattet mit weitgehender Sicherheit die Bestimmung des Ovulationstermines innerhalb des Brunstzyklus der Hündin.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Antoine, T.: Die Bedeutung des Zervixfaktors für die Sterilität. Arch. f. Gynäk. 189, 245 (1957)

2. Baier, W. u. Rüsse, M.: Die Vaginoskopie der Hündin. Wiener tierärztl. Monatsschr. 1, 30-36 (1962)

3. Beck, M.: Beitrag zur Biochemie von Ejakulat, Samenblasensekret und Vaginalschleim von Rindern. Diss. München 1953

4. Belonoschkin, B.: Biologie und Klinik der Spermatozoen. Arch. f. Gynäk. 169, 151-183 (1939)

5. Belonoschkin, B.: Das Verhalten der menschl. Spermatozoen im weibl. Organismus. Münch. Med. Wschr. 22, 847 (1929)

6. Benesch, F.: Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe und Gynäkologie. 21 (1957)

7. Birnberg, C.H., Kurzrok, R. u. Laufer, A.: Simple Test for Determining Ovulation Time. J. Amer. med. Assoc. 166, 1174 (1958)

8. Boyland, E.: The Composition of Bovine Cervical Mucins and their Reaction with Oxydizing Agents. Biochem. J. 40, 334 (1946)

9. Bremicker, W.: Vergleichende Studien über die Biologie der Vagina. Arch. Gynäk. 129, 807 (1927)

10. Brüggemann, J., Bronsch, K., Drepper, K. u. Schole, J.: Beiträge zur Biochemie von Sperma und Eizelle. Fortpfl., Zuchthygiene u. Haustierbesamung 4, 111 (1954)

11. Cohen, M.R.: Glucose Reagent Stick Test compared with Other Criteria for Detection of Ovulation. Fertility and Sterility 10, 340 (1959)

12. Demmel, M. u. Witzigmann, J.: Die klinische Beurteilung des mikroskopischen Untersuchungsbefundes des Vaginalsekretes bei der Hündin. Arch. wiss. u. prakt. Thkd. 67, 489 (1934)

13. Doyle, J.B. u. Ewers, F.J.: The Fertility Testor. J.Amer. med. Assoc. 170, 109 (1959)

14. Evans, H.M. u. Cole, H.H.: The oestrus cycle in the dog. Anat. Rec. 35, 10 (1927)

15. Evans, H.M. u. Cole, H.H.: An Introduction to the Study of the Oestrus Cycle in the Dog. Memoirs of the University of California. 9, 65 (1931)

16. Frei, W. u. Metzger, E. (zit. nach Zaki, K.E.: Untersuchungen über das Zellbild von Vaginalabstrichen des Rindes mit Hilfe der Färbemethode nach Papanicolaou. Diss. Hannover (1959)).

17. Ganderath, J.: Ein Beitrag zur vaginalen Zyklusdiagnose beim Rind. Diss. Gießen (1957)

18. Grau, H. u. Walter, P.: Berliner Münchener Tierärztl. Wschr. 71, 423 (1958)

19. Griffiths, W.F.B. u. Amoroso, E.C.: Prooestrus, Oestrus, Ovulation and Mating in the Greyhound Bitch. Veterin. Rec. 51, 1279 (1939)

20. Hauck, H.: Über einen zuverlässigen Schnelltest zur Harnzuckerbestimmung. Die Therapie des Monats. 2, 69 (1957)

21. Kratzheller, K.: Untersuchungen über das Zellbild von Vaginalabstrichen der Hündin im Färbeverfahren der Methode Papanicolaou. Diss. Gießen (1956)

22. Kuest, D. u. Schaetz, F.: Fortpflanzungsstörungen der Haustiere. 2 (1953)

23. Lamar, J.K., Shettles, L.B. u. Delfs, E.: Cyclic Penetrability of Human Cervical Mucus to Spermatozoa in Vitro. Amer. J. Physiol. 129, 234 (1940)

24. MacLeod: (zit. nach Viergiver, E. u. Pommerenke, W.T.: Amer. J. Obstetr. Gynecol. 54, 459 (1947))

25. Newberry, W.E. u. Gier, H.T.: Determination of breeding time in the bitch from vaginal smears. Veterin. Med. 47, 390 (1952)

26. Niendorf, F.: Der heutige Stand der Forschung über die Bedeutung des Zervikalzyklus und der Hyaluronidase für das Problem der Fortpflanzung.
Münch. Med. Wschr. 95, 366 (1953)

27. Papanicolaou, G.N.: The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smears.
Amer. J. Anat. 52, 519 (1933)

28. Rauscher, H.: Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten des Vaginalabstriches, der Zervixfunktion und der Basaltemperatur in zweiphasischen Zyklen.
Geburtsh. u. Frauenhk. 14, 327 (1954)

29. Rauscher, H.: Die Ermittlung der praeovulatorischen Phase durch die Simultanuntersuchung von Vaginalabstrich (Smear) und Zervix.
Geburtsh. u. Frauenhk. 16, 890 (1956)

30. Rieck, G.W. u. Kratzheller, K.: Zytologie des desquamierenden Vaginalepithels der Hündin und ihre Anwendung für die Zyklusdiagnostik.
Zbl. Veterinärmed. 2, 92 (1955)

31. Schmitt, A.: Zytologie des Zyklus mit besonderer Berücksichtigung der Oestrogenwirkung. Runge, H. Gynäkologische Zytologie. 4

32. Shettles, L.B.: Der Zervikalzyklus beim Menschen.
Geburtsh. u. Frauenhk. 12, 1 (1952)

33. Shettles, L.B. u. Dische, Z.: The composition of polysaccharides of human cervical mucus.
Federation Proceedings, 7, 114 (1948)

34. Shettles, L.B., Dische, Z. u. Osnos, M.: Neutral Mucopolysaccharide of the Human Cervical Mucus.
J. Biol. Chemistry 129, 589 (1951)

35. Sillő-Seidl, G.: Kritik der Ovulationsteste.
Zbl. Gynäk. 47 (1961)

36. Soszka, S.: Sur le test chimique du cycle anovulaire.
Proc. Second World Congress of Fertility and Sterility 1 (1956)

37. Viergiver, E. u. Pommerenke, W.T.: The determination of reducing substances in human cervical mucus. Amer. J. Obstetr. Gynecol. 54, 459 (1947)

38. Viergiver, E. u. Pommerenke, W.T.: Cyclic variations in the viscosity of cervical mucus and its correlation with amount of secretion and basal temperature. Amer. J. Obstetr. Gynecol. 51, 192 (1946)

39. Witzigmann, J.: Über die freien zelligen Bestandteile des Brunstsekretes der Hündin. Arch. wiss. u. prakt. Thk. 68, 271 (1935)

40. Yamane u. KoKato: (zit. nach Belonoschkin, B. : Biologie und Klinik der Spermatozoen. Arch. Gynäk. 169, 151 (1939))

Lebenslauf

Am 18. Dezember 1936 wurde ich, Margot Martha Charlotte Selbmann, als einziges Kind des Albert Selbmann und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Schwarz, in Arnsberg/Westf. geboren. Mein Vater fiel am 8. April 1945 als Offizier in Königsberg/Ostpr.

In Arnsberg/Westf. besuchte ich von 1943 bis 1947 die Volksschule und bestand im Frühjahr 1947 die Aufnahmeprüfung für das Neusprachliche Mädchengymnasium der Armen Schulschwestern in Arnsberg. Ich verließ diese Schule nach bestandener Reifeprüfung Ostern 1956.

Im Mai 1956 übersiedelte ich mit meiner Mutter nach Vaterstetten bei München und immatrikulierte mich noch im selben Monat an der Ludwig Maximilians Universität München für das Studium der Veterinärmedizin. Im Mai 1958 bestand ich die tierärztliche Vorprüfung. Ende des Sommersemesters unterzog ich mich an dieser Universität der tierärztlichen Prüfung, die ich im März 1961 abschloß. Vom 1. April bis 31. August 1961 leistete ich 5 Monate meiner Praktikantenzeit an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Baier ab. Den letzten Monat der Praktikantenzeit absolvierte ich am Städt. Schlacht- und Viehhof München.

Am 11. November 1961 erhielt ich meine Bestallung als Tierarzt.